

Análisis polimórfico de interleucina IL-1 β en pacientes con diagnóstico de *Helicobacter pylori*, en Tabasco, México

Polymorphic analysis of interleukin IL-1 β in patients with a diagnosis of *Helicobacter pylori* in Tabasco, Mexico

Liliam A. Fuentes-Márquez¹, Luis D. Jiménez-Martínez^{1,*}, Carlos A. Frías-Quintana^{2,#}

Resumen

Introducción. Los estudios sobre la infección de *Helicobacter pylori* y el gen de IL-1B juega un importante rol dentro de la inflamación y sus propiedades proinflamatorias que promueven a la defensa contra patógenos. Los polimorfismos se han relacionados con una mayor producción de IL-1 β asociada a cuadros de hipoclorhidria y desarrollo de cáncer bajo la infección de *H. pylori*, por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar el polimorfismo en la región +3954 (IL-1B C>T) del gen interleucina IL1 β .

Método. Las muestras de sangre fueron donadas y colectadas para ser procesadas para la determinación de *H. pylori*, mediante Test de ureasa (Proindusquim), en la ciudad de Villahermosa Tabasco, México, separando muestras positivas y negativas (control), las muestras positivas fueron analizadas mediante PCR y digestión enzimática para el análisis polimórfico en la región +3954 (IL-1B C>T).

Resultados. Se analizaron 245 muestras 78 casos de infección por *H. pylori*, 49 fueron hombres (62.8%) y 29 mujeres (37.17%), con edad media de 58.5 años (21-77 años). Las frecuencias genotípicas y alélicas observadas, 45 individuos fueron homocigotos normales (CC), 12 homocigotos raros (TT) y 21 heterocigotos (CT), en el grupo de controles se encontró que 74 individuos eran homocigotos normales (CC), 32 eran homocigotos raros (TT) y 61 fueron heterocigotos (CT).

Conclusión. Este estudio muestran una asociación entre el polimorfismo de interleucina IL-1 β +3954(C>T) y la predisposición de la población portador del genotipo homocigoto CC infectado con *H. pylori* desarrolle cáncer.

Palabras clave: *Helicobacter pylori*, Interleucina, PCR, Polimorfismo.

Abstract

Introduction. Studies on the infection of *Helicobacter pylori* and the IL-1B gene play an important role within inflammation and its proinflammatory properties that promote defense against pathogens. Polymorphisms have been related to a higher production of IL-1 β associated with hypochlorhydria and cancer development under *H. pylori* infection, so the objective of this study was to evaluate polymorphism in the +3954 region (IL-1B C>T) of the interleukin IL1 β gene.

Method. The blood samples were donated and collected to be processed for the determination of *H. pylori*, by means of the Urease Test (Proindusquim), in the city of Villahermosa Tabasco, Mexico, separating positive and negative samples (control), the positive samples were analyzed by PCR and enzymatic digestion for polymorphic analysis in the +3954 region (IL-1B C>T).

Results. 245 samples 78 cases of *H. pylori* infection were analyzed, 49 were men (62.8%) and 29 women (37.17%), with a mean age of 58.5 years (21-77 years). Genotypic and allelic frequencies observed, 45 individuals were normal homozygotes (CC), 12 rare homozygotes (TT) and 21 heterozygotes (CT), in the control group it was found that 74 individuals were normal homozygotes (CC), 32 were rare homozygotes (TT) and 61 were heterozygous (CT).

Conclusion. This study shows an association between the IL-1 β + 3954 (C>T) interleukin polymorphism and the predisposition of the population carrying the homozygous CC genotype infected with *H. pylori* to develop cancer.

Keywords: *Helicobacter pylori*, Interleucin, PCR, Polymorphism.

¹DAMJM Laboratorio de Biología molecular, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

²Laboratorio de Investigación en Biotecnología Acuicola (LIBA), Tecnológico Nacional de México Campus Boca del Río (ITBoca)

ORCID:

^{*}<https://orcid.org/0000-0002-1869-3269>

[#]<https://orcid.org/0000-0002-5407-4991>

Correspondencia a:

Carlos Alfonso Frías Quintana
Dirección Postal: Carretera Veracruz-Córdoba Km.12, 94290. Boca del Río, Veracruz, México.

Email: cafq22@hotmail.com

Fecha de recepción: 31 de marzo de 2020

Fecha de aprobación: 20 de agosto de 2020

Citar como: Fuentes-Márquez LA, Jiménez-Martínez LD, Frías-Quintana CA. Análisis polimórfico de interleucina IL-1 β en pacientes con diagnóstico de *Helicobacter pylori*, en Tabasco, México. Rev. Peru. Investig. Salud. [Internet]; 4(4): 170-176. Available from: <http://revistas.unheval.edu.pe/index.php/repis/article/view/710>



Introducción

El cáncer gástrico es uno de los más comunes neoplasmas presentes en la actualidad, ya que cuenta 870.000 nuevos casos a nivel mundial, siendo la infección por *Helicobacter pylori* una de las causas que desencadena esta enfermedad, convirtiéndose en la segunda causa de muerte (1). En este sentido la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC), designó a *Helicobacter pylori* como un carcinógeno Tipo I, en humanos (2), por lo que se han hecho estudios moleculares para

entender la etiología y diagnóstico de la enfermedad a través de análisis polimórficos (3,4). Recientemente, se han asociado ciertos polimorfismos genéticos como la interleucina 1 β con diferencias funcionales en cuanto al efecto de esta citosina proinflamatoria sobre la secreción gástrica en individuos afectados de cáncer gástrico (5, 6, 7, 8, 9). Dichos polimorfismos se encuentran en una frecuencia menor del 1% de la población, y los más comunes son los SNPs o polimorfismos de un solo nucleótido (10). El término interleucina se refiere a aquellas citosinas que actúan en la comunicación entre leucocitos (11). La IL-1 fue

descrita originalmente como “pirógeno endógeno”, debido a su capacidad para provocar una reacción febril en conejos. La familia de las interleucinas consiste de dos citosinas proinflamatorias IL-1 α y IL-1 β , los genes de la mayoría de los miembros de la superfamilia de IL-1 están localizados en el brazo largo del cromosoma 2, en la región 2q12-q21, ambas citosinas son producidas por monocitos, macrófagos y células epiteliales. Ambas exhiben características biológicas similares que incluyen la respuesta hospedera frente a las invasiones microbianas, inflamación y daño tisular (12, 13). Algunas de las citosinas que participan como mediadores de la respuesta inflamatoria contra *H. pylori*, han sido asociadas con un mayor riesgo de desarrollar lesiones gástricas precancerosas y cáncer gástrico (14, 15,16). Existe un creciente interés en el estudio de los polimorfismos genéticos como causas del desarrollo de cáncer. Chen et al. Encontraron que los SNPs en la región promotora tienen actividad funcional (17). El polimorfismo bialélico se han asociado con un incremento en el riesgo de padecer cáncer gástrico y se tratan de transiciones de base C-T: 3954 (C>T), cuyo número indica su posición a partir del codón inicial de traducción. Los polimorfismos se han relacionados con una mayor producción de IL1 β asociada a cuadros de hipoclorhidria y desarrollo de cáncer bajo la infección de *H. pylori*. La principal ventaja del estudio de polimorfismos es que se puede utilizar cualquier tipo de ADN, es una técnica poco costosa que permite obtener resultados inmediatos, permitiendo discriminar entre individuos homocigotos o heterocigotos debido a un polimorfismo de un solo nucleótido (18). El objetivo de este estudio fue evaluar los polimorfismos en la región +3954 (IL-1B C>T) del gen interleucina IL1 β para diagnóstico de *Helicobacter pylori* y su predisposición de cáncer gástrico mediante PCR en una muestra de la población del municipio del centro, Villahermosa Tabasco.

Métodos

Obtención de muestras

Se colectaron 245 muestras de sangre donadas por el Centro de salud público “Maximiliano Dorantes”, en el municipio del centro de la ciudad de Villahermosa, Tabasco, durante el año 2019, como parte del proyecto: Asociación entre los genes IL-1 alfa 1L-1 beta, TNF alfa en la periodontitis en una población

tabasqueña, mismo proyecto fue aprobado por el comité de ética de la institución de la División de Ciencias de la Salud de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), posteriormente las muestras fueron enviadas al Laboratorio de Biología Molecular de la División Académica Multidisciplinaria de Jalpa de Méndez para su posterior procesamiento bioquímico y análisis de ADN.

Análisis bioquímico

La identificación de *Helicobacter pylori* se realizó mediante el kit de ureasa (Proindus-quim ®, REQUIMEC, Quito, Ecuador) de acuerdo con el protocolo establecido por el proveedor, a partir de suero centrifugado, por el laboratorio de pacientes con detección positiva de *Helicobacter pylori*, así como muestras negativas y muestras control (individuos sanos).

Extracción de ADN genómico a partir de sangre

Se realizó extracción de ADN genómico de las muestras de sangre por el método cloroformo-fenol (19). El ADN extraído fue cuantificado con un espectrofotómetro NanoDrop One (Thermo Scientific, Ohio USA) y la integridad de ADN fue confirmado en un gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio. El genotipo de cada individuo se determinó mediante el método de Reacción de Cadena de la Polimerasa (PCR) mediante el uso de enzimas de restricción utilizando un termociclador Proflex Applied Biosystems™ (C.A. USA). Los resultados fueron verificados en geles horizontales de agarosa al 2% con un marcador molecular 100 pb (Invitrogen^(R) Tech-Line NY, USA) para la detección de las diferentes bandas.

Reacción de cadena de polimerasa (PCR)

Para el estudio de este polimorfismo se amplificó la región +3954 (IL-1B C>T) del gen interleucina con 249 pares de bases (bp) correspondientes a una región el exón 5 del gen IL-1 β . Se obtuvo un volumen final de PCR de 25 μ L por cada muestra, la cual está conformada por 11.7 μ L de H₂O MilliQ, 2.5 μ L de buffer 10X, 0.8 μ L de MgCl₂, 0.5 μ L de dNTPs (dideoxinucleótidos trifosfato a 200 mM cada uno), 2.5 μ L de primer FW 5'-GTTGTCATCAGACTTTGACC-3' (0.2 μ M), 2.5 μ L de primer RV 5'-TTCAGTTCATATGGA CCAGA-3' (0.2 μ M), ambos de Invitrogen, más 0.5 μ L de Taq polimerasa Invitrogen y 4 μ L de ADN (200 ng por reacción) (20). Los tubos fueron colocados en el termociclador Proflex

Applied Biosystems™ (C.A. USA) para su amplificación bajo el siguiente protocolo: 94 °C por 10 min., 95 °C por 30 seg., 58.0°C por 30 seg., 72 °C por 45 seg., realizando 35 ciclos (20). Los fragmentos resultantes se observaron mediante un gel de agarosa al 2% inyectando las muestras y el marcador de peso molecular de 100 pb (Invitrogen Tech-Line NY, USA), posteriormente fueron visualizados en un transiluminador ENDURO Gel Documentation System Labnet International, Inc. (N.J. USA).

Digestión de productos de PCR Polimorfismo IL-1 β +3954 (C>T)

El polimorfismo IL-1 β +3954 corresponde a un Polimorfismo de un Solo Nucleótido (SNP) localizado en el exón 5 del gen de Interleucina 1 β , en la posición +3954 y corresponde a un cambio de citosina por timina (C>T) que se asocia con un aumento de producción de la citosina. El reconocimiento y revelado de genotipo se da por la digestión con la enzima TaqI (Invitrogen^(R) Tech-Line NY, USA), usando 10 μ L del producto de PCR, 2 μ L de Buffer 10X, 0.8 μ L de enzima TaqI (10 U/ μ L) y 7.8 μ L de H₂O para un volumen final de 20 μ L. La digestión se incubó durante 3 horas a 65°C, y las muestras se visualizaron en un gel de agarosa al 2%, usando el marcador de peso molecular de 100 pb (Invitrogen Tech-Line NY, USA). El genotipo homocigoto CC se determinó al observar 2 bandas resultantes de la digestión (135 bp y 114 bp), el genotipo homocigoto TT se confirmó al observar una única banda de 249 bp y el genotipo heterocigoto CT se determinó al observar 3 bandas (249 bp, 135bp y 114bp).

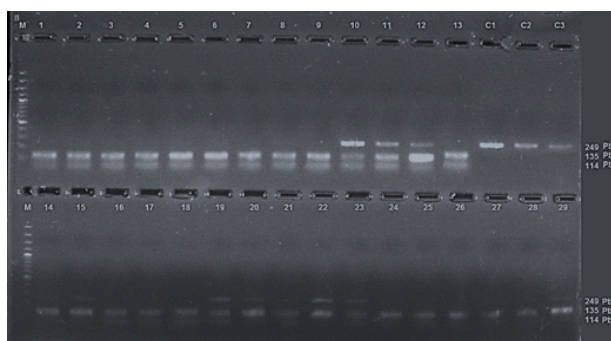


Figura 1. Gel de agarosa al 2% donde se observa los productos de PCR, Genotipo homocigoto TT (249 bp), Genotipo homocigoto CC (135 y 114 bp), M: Marcador molecular 100 pb, números de pacientes positivos a *H. pylori* y controles (C), n=245

Análisis estadísticos

Para el análisis de los datos, se empleó el software Statistica v. 7.5, por medio del cual se realizaron pruebas de independencia de Chi-cuadrado, para determinar la posible relación entre los diferentes genotipos del huésped y la presencia de *H. pylori*, tomando un valor estadísticamente significativo $p \leq 0.05$, bajo el equilibrio de Hardy-Weinberg para cada una de las posiciones polimórficas.

Resultados

Este estudio analizó un total de 245 muestras de los cuales 130 eran hombres y 115 mujeres, de ambos se detectó 78 casos de infección por *Helicobacter pylori* y 167 individuos que salieron negativos en la detección de *H. pylori* fueron considerados los controles en esta investigación. La edad media de los individuos con infección de *H. pylori* al momento de diagnóstico fue de 58.5 ± 12.3 años, cuyo rango de edad varió entre 21 y 77 años con un promedio de 57 años. La edad media de los individuos controles, fue de 50.3 ± 11.6 años, cuyo rango de edad varió entre 23 y 85 años con un promedio de 51 años. Del total de 245 individuos analizados en el estudio, 130 fueron hombres (53%), mientras que 115 fueron mujeres (46.9%). Los 78 casos infectados, 49 fueron hombres (62.8%) y 29 mujeres (37.17%). Los 167 controles se dividieron en 92 hombres (55.08%) y 75 mujeres (44.91%).

Determinación de genotipo (PCR)

Se procedió a calcular las frecuencias genotípicas de la población control y de la población afectada, la cual se obtuvo mediante la división del número de individuos con cada genotipo (homocigoto dominante, heterocigoto, homocigoto recesivo) para el número total de individuos. Para obtener el equilibrio en la población estudiada, la suma de las frecuencias genotípicas para un solo locus debe ser igual a 1,00. Las frecuencias esperadas se obtuvieron a partir de las frecuencias alélicas mediante la ecuación de Hardy-Weinberg, así como la prueba de Odds ratio (20). Para determinar si existían diferencias significativas entre los individuos afectados, control y los polimorfismos, se realizó una prueba de Chi-cuadrado (χ^2) en el software Statistica v. 7.5.

Digestión con enzimas de restricción

La digestión de los productos PCR de 249 bp con la enzima de restricción TaqI en las condiciones descritas en la sección de

Materiales y Métodos presenta uno de los tres genotipos posibles, que se explican a continuación: Genotipo homocigoto CC: Este genotipo se observa como dos bandas separadas, de 135 y 114 bp, Genotipo homocigoto TT: Este genotipo se observa la presencia de una sola banda (249 bp) que corresponde a la ausencia de sitios reconocibles para la enzima en ambas cadenas del producto amplificado y Genotipo heterocigoto CT o TC: Este genotipo se observa como 3 bandas individuales en el gel: longitud total del amplicón (249 bp) y los productos de su digestión total con la enzima (135 y 114 bp).

Frecuencia de alelos

La distribución de las frecuencias genotípicas y alélicas se observa en la Figura 2. Del grupo de casos infectados, 45 individuos fueron homocigotos normales (CC), 12 fueron homocigotos raros (TT) y 21 individuos fueron heterocigotos (CT). En el grupo control se encontró que 74 individuos eran homocigotos normales (CC), 32 eran homocigotos raros (TT) y 61 fueron heterocigotos (CT). En cuanto a la frecuencia del alelo C en los afectados fue de 0.87 y en los controles de 0.82, mientras que la frecuencia del alelo T en afectados fue de 0.13 y en controles de 0.18. Mediante el

análisis de Chi-cuadrado, se obtuvieron valores que muestran que ambas muestras están en equilibrio Hardy-Weinberg y que no existen diferencias significativas (Tabla 1). La prueba de Odds ratio fue aplicada para conocer el riesgo relativo de que un genotipo o un alelo específico esté relacionado con el desarrollo de cáncer gástrico en presencia de *Helicobacter pylori*. Los valores obtenidos para el genotipo homocigoto CC representaría en un individuo le daría un riesgo 3 veces mayor de padecer cáncer.

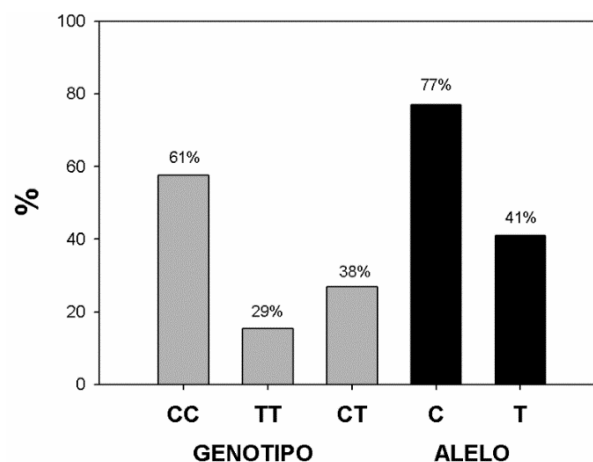


Figura 2. Porcentajes del genotipo y distribución de alelos. n= 245, Gris: genotipos, Negro: alelos

Tabla 1. Análisis Hardy-Weinberg del polimorfismo IL-1 β +3954 (C>T)

Grupo	Genotipo	No. individuos	%	No. Alelos	Frecuencias genotípicas	Frecuencias esperadas	Frecuencias alélicas	X ² HW	p
Individuos infectados	CC	45	57.69	87	0.75	0.72	0.83	1.34	0.21
	TT	12	15.38	5	0.02	0.01	0.15		
	CT	21	26.92	25	0.17	0.15			
	Total	78							
Individuos control	CC	74	44.31	96	0.65	0.61	0.79	2.03	0.12
	TT	32	19.16	6	0.09	0.06	0.14		
	CT	61	36.52	31	0.21	0.26			
	Total	167							

Valores expresados en frecuencias genotípicas (%) y alélicas, valores de chi cuadrado (Hardy-Weinberg) no significativos (P<0.5) n= 245.

Tabla 2. Análisis de Odds ratio para los genotipos

Genotipo	Número de infectados	Número control	Odds ratio	95% IC	p
CC	45	74	1.0 (Ref)		
CT	12	32	0.98	0.275-3.270	0.75
TT	21	61	0.95	0.279-3.250	0.8
CT+TT	33	93	0.96	0.301-3.021	0.81

Valores expresados de Odds ratio ajustados por frecuencia genotípica (IC del 95%) para la asociación del polimorfismo IL-1 β +3954 con cáncer gástrico.

Discusión

Los resultados obtenidos muestran una asociación entre el polimorfismo de interleucina IL-1 β +3954(C>T) y el cáncer gástrico. Ya que diversos estudios han identificado y relacionado con un incremento en la producción de la interleucina frente a patógenos, ya que es una molécula proinflamatoria importante en la señalización y amplificación de la respuesta frente a la infección por *Helicobacter pylori*, produciendo un proceso inflamatorio que puede desencadenar la transformación maligna de la mucosa, a través de cambios moleculares y morfológicos (21, 22). En cuanto a las frecuencias genotípicas y alélicas, los resultados muestran que el polimorfismo, IL-1 β +3954 (C>T) el genotipo homocigoto normal CC es el que ocurre en mayor porcentaje (57.69%) de la población. En comparación con las frecuencias genotípicas y alélicas de otras poblaciones del mundo, la población estudiada tiene un comportamiento similar al de estudios realizados en países de Centroamérica como Venezuela y Ecuador, observándose la prevalencia del homocigoto TT (Ecuador 53.9%, Venezuela 55%), seguida por el heterocigoto CT (Ecuador 36%, Venezuela 24%) y por último el homocigoto normal CC (Ecuador 10%, Venezuela 21%)(20). Los porcentajes reportados en otras partes del mundo como India, China y EEUU coinciden en la mayor frecuencia del homocigoto TT. Sin embargo, la población ecuatoriana muestra un elevado porcentaje (21,92%) del genotipo homocigoto TT que en otros países llegando a ser incluso inexistente en la población. Por otro lado, se observó un 26.92% de heterocigotos CT, del cual las otras poblaciones mencionadas poseen una frecuencia similar (23).

Los genotipos respectivos para el polimorfismo IL +3954(C>T) mostraron una desviación del equilibrio en el grupo de pacientes afectados con un valor χ^2 HW de 1,34; $p < 0,05$, mas no el de controles (χ^2 HW= 2.3; $p > 0,05$), lo que confirmaría un posible rol de este último polimorfismo en el riesgo de desarrollar cáncer (24). En el análisis estadístico de Odds ratio, los valores de OR con IC 95% se calcularon con respecto al homocigoto normal de cada polimorfismo estudiado. Este polimorfismo se encuentra localizado en un sitio de unión de Ap2, un factor de transcripción inhibidor de la expresión génica (25). Otero et al. encontraron un riesgo elevado de cáncer gástrico asociado al genotipo homocigoto raro TT del polimorfis-

mo con un OR de 2,6 en población polaca y escocesa, encontrando también un riesgo significativo asociado con el genotipo heterocigoto CT (22). Datos similares fueron obtenidos en otras poblaciones caucásicas de Estados Unidos y Portugal (21). Estudios realizados en Costa Rica señalan la asociación entre el alelo T de este polimorfismo con el riesgo de cáncer gástrico y estudios in vitro han relacionado al alelo con una mayor producción de la citocina (26). Estos resultados son similares a los obtenidos en poblaciones de China, Estados Unidos, poblaciones europeas y del norte de Brasil en las cuales el polimorfismo IL-1 β +3954 (C>T) tuvo una asociación significativa con la carcinogénesis gástrica (21, 28).

Conclusión

Así, en esta población evaluada de Villahermosa tabasco, México se observa que existe un riesgo tres veces mayor de que un individuo portador del genotipo homocigoto raro CC infectado con *Helicobacter pylori* desarrolle cáncer. Al tener dos copias del alelo C, los niveles de la interleucina se elevan frente a la infección y producen la inflamación crónica que genera daños tisulares por cambios tanto moleculares y morfológicos. Este estudio sugiere a través de esta metodología identificar a los individuos susceptibles a padecer la enfermedad de *Helicobacter pylori* y su predisposición a cáncer gástrico, especialmente en zonas de alto riesgo.

Agradecimientos

El autor agradece al laboratorio de análisis clínicos del centro de salud Maximiliano Dorantes por el apoyo en la toma de muestras para la realización de esta investigación en colaboración con el proyecto: Asociación entre los genes IL-1 alfa 1L-1 beta, TNF alfa en la periodontitis en una población tabasqueña de la División de Ciencias de la Salud de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

Fuente de financiamiento

La presente investigación estuvo financiado por los autores.

Contribución de los autores

Todos los autores participaron en todo el proceso de la investigación.

Conflicto de Interés

Declaramos no tener conflicto de interés.

Referencias bibliográficas

1. El-Matary W, Nugent Z, Bernstein C, Singh H. Long-term Cancer Risk in Patients With Pediatric-Onset Inflammatory Bowel Diseases in the Canadian Population. *Gastroenterol*. 2020;159(1): 386-387.
2. Chen C, Zhang C, Wang X, Zhang F, Zhang Z, Ma P. *Helicobacter pylori* infection may increase the severity of nonalcoholic fatty liver disease via promoting liver function damage, glycometabolism, lipid metabolism, inflammatory reaction and metabolic syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2020; 32(7): 857-866.
3. Ma J, Wu D, Hu X, Li J, Cao M, Dong W. Associations between cytokine gene polymorphisms and susceptibility to *Helicobacter pylori* infection and *Helicobacter pylori* related gastric cancer, peptic ulcer disease: A meta-analysis. *PLoS one*. 2017;12(4): e0176463.
4. Martínez-Campos C, Torres-Poveda K, Camorlinga-Ponce M, Flores-Luna L, Maldonado-Bernal C, Madrid-Marina V, et al. Polymorphisms in IL-10 and TGF- β gene promoter are associated with lower risk to gastric cancer in a Mexican population. *BMC Cancer*. 2019;19(1): 453.
5. Rech TF, Mazzoleni LE, Mazzoleni F, Francesconi CF, Sander GB, Michita RT, et al. Analysis of the Influence of Interleukin-1 β Gene Polymorphism on Gastric Inflammatory Response and Precancerous Lesions Development in Patients with Functional Dyspepsia. *Immunol Invest*. 2020: 1-12.
6. Pachathundikandi SK, Müller A, Backert S. Inflammasome activation by *Helicobacter pylori* and its implications for persistence and immunity. In: *Inflammasome Signaling and Bacterial Infections*. Springer, Cham. 2016:117-131.
7. Sultana Z, Bankura B, Pattanayak AK, Sengupta D, Sengupta M, Saha ML, et al. Association of Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha genetic polymorphisms with gastric cancer in India. *Environm Molec Mutagen*. 2018;59(7):653-667.
8. Bagheri V, Memar B, Momtazi AA, Sahebkar A, Gholamin M, Abbaszadegan MR. Cytokine networks and their association with *Helicobacter pylori* infection in gastric carcinoma. *J Cell Physiol*. 2018;233(4): 2791-2803.
9. Alfarouk KO, Bashir AH, Aljarbou AN, Ramadan AM, Muddathir AK, AlHoufie ST, et al. The Possible Role of *Helicobacter pylori* in Gastric Cancer and Its Management. *Front in Oncol*. 2019;9:75.
10. Yin S, Lan C, Pei H, Zhu Z. Expression of interleukin 1 β in gastric cancer tissue and its effects on gastric cancer. *Onco Targets Ther*. 2016; 9:31.
11. Al Qaysi SA, AL Katawe HM, Al-Hasnawy H. Gene Polymorphism of Interleukin 1 β and Oxidative Stress in Gastritis Patients Infected with *Helicobacter pylori*. *Indian J Public Health Res Dev*. 2019;10(4):1582-1588.
12. Zhou L, Zheng Y, Tian T, Liu K, Wang M, Lin S, et al. Associations of interleukin-6 gene polymorphisms with cancer risk: evidence based on 49,408 cancer cases and 61,790 controls. *Gene*. 2018;670: 136-147.
13. Dusser P, Marsaud C, Koné-Paut I. Síndromes autoinflamatorios. *EMC-Aparato Locomotor*. 2016;49(1): 1-11.
14. Skierucha M, Milne AN, Offerhaus GJA, Polkowski WP, Maciejewski R, Sitarz R. Molecular alterations in gastric cancer with special reference to the early-onset subtype. *World J Gastroenterol*. 2016;22(8): 2460.
15. Zhang XY, Zhang PY, Aboul-Soud MA. From inflammation to gastric cancer: Role of *Helicobacter pylori*. *Oncol Lett*. 2017;13(2): 543-548.
16. Figura N, Marano L, Moretti E, Ponzetto A. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma: Not all the strains and patients are alike. *World J Gastrointest Oncol*. 2016;8(1): 40.
17. Xia H, Chen Y, Meng J, Liang C. Effect of polymorphism on IL1A to cancer susceptibility: Evidence based on 34,016 subjects. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 2019;47(1): 3138-3152.
18. Paradise C. RFLP Method: Restriction Fragment Length Polymorphism. Davidson College. 2001; <http://www.bio.davidson.edu/COURSES/genomics/method/RFLP.html>
19. Chomczynski P, Sacchi N. The single-step method of DNA isolation by acid guanidi-

- nium thiocyanate–phenol–chloroform extraction: twenty-something years on. *Nat protoc.* 2006;1(2): 581-585.
20. Cumbal-Guerrón NI. Estudio de los polimorfismos en las regiones -31(t>c), -511(c>t) y +3954(c>t) del gen IL-1 β de interleucina-1 β mediante PCR-RFLP en población ecuatoriana con cáncer gástrico y presencia de *Helicobacter pylori*. Tesis, escuela politécnica del ejército departamento de ciencias de la vida ingeniería en biotecnología, Sangolquí, Ecuador. 2010; 90.
 21. Rodríguez-Burneo N, Simancas D, Núñez S, Realpe J, Paz Z, Fornasini M. Análisis molecular de *Helicobacter pylori* (genes de patogenicidad) en biopsias gástricas de pacientes de la Sierra y Oriente Ecuatorianos. *Rev Ecuat Med EUGENIO ESPEJO*, 2019;7(11): 1-7.
 22. Rizzato C, Torres J, Obazee O, Camorlinga-Ponce M, Trujillo E, Stein A. Variations in cag pathogenicity island genes of *Helicobacter pylori* from Latin American groups may influence neoplastic progression to gastric cancer. *Sci Rep.* 2020;10(1): 1-9.
 23. Hong JB, Zuo W, Wang AJ, Lu NH. *Helicobacter pylori* infection synergistic with IL-1 β gene polymorphisms potentially contributes to the carcinogenesis of gastric cancer. *Int J Med Sci.* 2016;13(4): 298.
 24. Morán Y, Cañas M, Grimán P. Distribución de polimorfismos genéticos de interleucina-1 en individuos de la región centroccidental de Venezuela. *Act Col.* 2009;14(1):185-194.
 25. Iniesta R, Guinó E, Moreno V. Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gac Sanit.* 2005;19(4):333-341.
 26. Cheng XJ, Lin JC, Tu SP. Etiology and prevention of gastric cancer. *Gastrointestinal tumors*, 2016; 3(1): 25-36.
 27. Yin WT, Pan YP, Lin L. Association between IL-1 α rs17561 and IL-1 β rs1143634 polymorphisms and periodontitis: a meta-analysis. *Genet Mol Res.* 2016;15(1): 15017325.
 28. Molina-Castro S, Garita-Cambronero J, Malespín-Bendaña W, Une C, Ramírez V. Virulence factor genotyping of *Helicobacter pylori* isolated from Costa Rican dyspeptic patients. *Microb Pathog.* 2019;128: 276-280.